

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 735 694

②1 N° d'enregistrement national :

95 07337

⑤1 Int Cl^e : A 61 K 31/70

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 20.06.95.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 27.12.96 Bulletin 96/52.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : ROUSSEL UCLAF — FR.

⑦2 Inventeur(s) : BRYSKIER ANDRE et LABRO MARIE
THERESE.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire :

⑤4 LE CLADINOSE A TITRE DE MEDICAMENT ET LES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES
RENFERMANT.

⑤7 L'invention a pour objet le cladinose et notamment le
L-cladinose comme médicament.

L'invention a également pour objet les compositions
pharmaceutiques renfermant le cladinose et notamment le
L-cladinose.

Le cladinose peut être utilisé dans le traitement des phé-
nomènes inflammatoires en médecine humaine et animale.

FR 2 735 694 - A1



La présente invention a pour objet le cladinose à titre de médicament et les compositions pharmaceutiques le renfermant.

L'invention a pour objet à titre de médicaments, le
5 cladinose sous toutes ses formes stéréoisomères possibles ainsi que leur mélange, libre ou greffé sur un support.

Le cladinose est un produit connu qui a fait l'objet de différentes publications par E.H. Flynn et Coll. dans J. Am. Chem. Soc., 76, 3121-31 (1954), par P.F. Wiley et Coll. dans
10 J. Am. Chem. Soc., 77, 3422-3 (1955) notamment.

La synthèse du cladinose et du L-cladinose en particulier est décrite par Howarth GB et Coll. dans Can. J. Chem. (1967), 45 (19) 2253-6.

A ce jour, aucune propriété pharmacologique du cladinose
15 n'a été décrite, aucune application thérapeutique n'a été envisagée. On vient de découvrir que le cladinose et notamment le L-cladinose présentait d'intéressantes propriétés pharmacologiques et notamment une intéressante activité anti-inflammatoire qui justifie son utilisation en thérapeutique
20 humaine ou animale.

Les propriétés anti-inflammatoires du cladinose et notamment du L-cladinose ont été déduites d'études in-vitro comparant des macrolides comportant du cladinose et des macrolides ne comportant pas de cladinose.

25 Des études pharmacologiques réalisées ensuite ont mis en évidence les propriétés anti-inflammatoires du cladinose et notamment du L-cladinose.

Les macrolides à 14 chaînons dérivés de l'érythromycine A possèdent des propriétés anti-inflammatoires.

30 L'érythromycine A par exemple a été étudiée sur divers modèles expérimentaux d'inflammation par Tarayre J.P. et Coll. 1987 Int. J. Tissue React. 9 : 77-85 par exemple.

Mikasa et Coll. 1992 J. Antimicrob Chemother. 30, 339-347) ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de
35 l'érythromycine dans le cas de péritonite aseptique chez la souris.

Tamaoki J. et Coll. (1994 Antimicrob Agents Chemother. 38, 1641-1644), ont mis en évidence l'activité anti-inflamma-

toire chez le rat, dans le cas d'inflammation trachéale induite par le LPS (ou lipopolysaccharide).

L'activité anti-inflammatoire des macrolides a également été décrite en thérapeutique : chez l'homme, l'érythromycine
5 s'est montrée utile pour le traitement de panbronchiolites diffuses (cf Nagai et Coll, 1991, Respiration 58, 145-149) ou pour le traitement de l'asthme bronchique (cf Miyatake et Coll. 1991, Chest. 99 : 670-673).

Les propriétés anti-inflammatoires de la roxithromycine
10 ont été décrites par C. Agen et Coll. dans Agents Actions 1993, 38 : 85-90 sur des tests classiques d'activité anti-inflammatoire comme le test de l'oedème plantaire aigu à la carraghénine chez le rat, ou le test de l'oedème plantaire aigu à la poly-L-arginine ou l'oedème aigu induit par l'huile
15 de croton.

Il a été décrit que les macrolides et notamment la roxithromycine, la dirithromycine, l'érythromycylanine et l'érythromycine A inhibent in vitro la production d'oxydants par les phagocytes à une étape se situant en amont de la
20 reconstitution de l'enzyme clef des phagocytes, la NADPH oxydase.

Ces propriétés d'inhibition de la production d'oxydants par les phagocytes ont été décrites par exemple par MT Labro et Coll. dans Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1993 31,
25 Suppl. C. 51-64 ou Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1989, 24, 561-572, ou 1992, 30 509-523.

On a observé également que les macrolides induisaient la dégranulation de polynucléaires neutrophiles humains (PN) in vitro de manière indépendante de leur accumulation cellulaire
30 (cf à ce sujet les articles de Abdelghaffar H. et Coll. Antimicrob. Agents Chemother 1994, 38 : 1548-1554, Labro M.T. et Coll. Program and Abstr. of the 33d Intersci. Conf. Antimicrob. Agent Chemother 1993, abstr. 309).

Les structures chimiques de macrolides induisant à la
35 fois la dégranulation et inhibant la production d'oxydants (azithromycine, clarithromycine, diithromycine, érythromycylamine, roxithromycine) ont un point commun : la présence d'un cladinose en 3.

Des études portant sur des macrolides connus qui ne comportent pas de cladinose comme la roxithromycine descladinosylée ou la clarithromycine descladinosylée ont clairement montré que ces molécules se comportaient différemment des 5 molécules comportant un cladinose, comme le montrent les résultats de tests exposés ci-après dans la partie expérimentale.

L'invention a donc pour objet le cladinose et notamment le L-cladinose à titre de médicament.

10 Le cladinose pouvant être libre ou fixé à un support chimique approprié.

Le cladinose et notamment le L-cladinose présentent d'intéressantes propriétés anti-inflammatoires qui permettent leur utilisation notamment dans le traitement des algies 15 musculaires, articulaires ou nerveuses, de l'asthme, des affections rhumatismales, des douleurs dentaires et des inflammations de la peau.

La posologie utile s'échelonne entre 10 et 300 mg par jour chez l'adulte en fonction de la voie d'administration et 20 de l'affection traitée.

L'invention a également pour objet les compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un des médicaments définis ci-dessus.

Ces compositions peuvent être administrées par voie, 25 buccale, rectale, parentérale ou par voie locale en application topique sur la peau et les muqueuses.

Elles peuvent être solides ou liquides et se présenter sous les formes pharmaceutiques couramment utilisées en médecine humaine, comme par exemple, les comprimés simples ou 30 dragéifiés, les gélules, les granulés, les suppositoires, les préparations injectables, les pommades, les crèmes, les gels ; elles sont préparées selon les méthodes usuelles. Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des excipients habituellement employés dans ces compositions 35 pharmaceutiques, tels que le talc, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le beurre de cacao, les véhicules aqueux ou non, les corps gras d'origine animale ou végétale, les dérivés paraffiniques, les glycols,

les divers agents mouillants, dispersants ou émulsifiants, les conservateurs.

Ces compositions peuvent également se présenter sous forme d'une poudre destinée à être dissoute extemporanément dans un véhicule approprié, par exemple de l'eau stérile apyrogène.

Exemple :

Le L-cladinose a été préparé en suivant par exemple le mode opératoire décrit par Howarth GB et Coll. dans Can. J. Chem. (1967) 45 (19) 2253-6.

I - Exemple de comprimés :

On a préparé des comprimés renfermant :

L-cladinose 150 mg

Excipient qsp 1 g

détail de l'excipient : amidon, talc, stéarate de magnésium.

II - Etude de la production d'O₂⁻ par les polynucléaires neutrophiles humains stimulés (PMA) en présence de macrolides (100 mg/l).

Le protocole du test utilisé est décrit par MT Labro et Coll. dans Journal of Anti-microbiol Chemotherapy (1989) 24, 561-572.

Description du test :

Le métabolisme oxydatif des polynucléaires neutrophiles est étudié par la technique de réduction du cytochrome C, inhibable par la superoxyde dismutase (SOD), décrite par Cohen H.J. et Chovaniec M.E. J. Clin. Invest. 1978, 61 : 1081-1087. Cette technique spectrophotométrique permet de suivre en cinétique la réduction du cytochrome C par l'O₂⁻ produit par les polynucléaires neutrophiles stimulés par du PMA (100 mg/ml - phorbol myristate acétate) ou un autre stimulant. Les résultats sont exprimés en nmoles d'O₂⁻ produit par 10⁶PN/min. Dans les tests portant sur les substances analysées (macrolides avec et sans cladinose), les PN sont préalablement incubés dans un milieu contrôle (tampon de dilution) ou en présence de macrolides, pendant 5, 30 ou 60 minutes.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau 1 :

Production d' O_2^- par les PN stimulés (PMA)
en présence de macrolides (100 mg/l)

5

Temps d'incubation

30 minutes

60 minutes

Contrôle : Vi nmole/ 10^6 PN/min

10 = 100>

4 \pm 1.7 (4 exp.) 4 \pm 1.4
moyenne \pm SEM

% de la réponse contrôle en présence de macrolides

15 Roxithromycine 0.6 \pm 0.6 (4 exp.) 0 \pm 0.0
Roxithromycine 84 \pm 14.7 (4)* 76 \pm 3.9 (4)*
sans cladinose

Clarithromycine 49 \pm 18.2 (3 exp.) 24 \pm 8.8 (4)
20 Clarithromycine 92 \pm 10.0 (3 exp.)* 69 \pm 4.2 (4)

III - Etude de la dégranulation induite par les macrolides

L'étude a été faite selon le protocole du test décrit
par H. Abdelgheffar et Coll. dans Anti-microbiol. Agents and
25 Chemotherapy 1994, 38, 7 : 1548-1554.

Le protocole est le suivant : Dégranulation

Les PN incubés (5 à 180 min.) dans un milieu contrôle
(tampon de dilution) ou en présence de macrolides, sont
centrifugés. Les activités enzymatiques sont mesurées dans le
30 culot cellulaire et le surnageant et la dégranulation enduite
est exprimée par le % d'activité enzymatique dans le surna-
geant sur la somme (culot + surnageant).

Les dosages enzymatiques sont effectués d'après les
techniques classiques décrites par Talalay et Coll. 1946, J.
35 Biol. Chem. 166, 756-772 pour la β -glucuronidase et par
Litwack G. 1955 Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89 : 401-403 pour
le lysozyme.

Les résultats sont les suivants :

Tableau 2 :

5 Dégranulation induite par les macrolides

		Temps d'incubation	
		60 minutes	180 minutes
10 Enzyme : β -glucuronidase			
Contrôle :	12 \pm 1.6 (4 exp.)	16 \pm 2.3 (4 exp.)	
dégranulation spontanée	moyenne \pm SEM		
Roxithromycine	43 \pm 3.7 (4 exp.)*	56 \pm 2.3 (4)*	
15 Roxithromycine	15 \pm 3.1 (4)**	24 \pm 2.4 (4)	
descladinose			
Clarithromycine	45 \pm 3.0 (3)*	60 \pm 6.1 (2)	
Clarithromycine	18 \pm 2.1 (3)**	26 \pm 9.6 (2)	
20 descladinose			
Lysozyme			
Contrôle :	15 \pm 2.0 (4)	19 \pm 2.7 (4)	
25 Roxithromycine	39 \pm 1.4 (4)*	47 \pm 4.6 (4)*	
Roxithromycine	16 \pm 2.3 (4)**	24 \pm 3.1 (4)**	
descladinose			
Clarithromycine	40 \pm 2.7 (3)*	55 \pm 1.4 (2)	
30 Clarithromycine	21 \pm 4.9 (3)**	26 \pm 4.6 (2)	
descladinose			

* p < 0.05 versus contrôle

** p < 0.05 versus la molécule mère

35

De ces deux tableaux de résultats, on peut déduire que le L-cladinose est responsable en totalité ou en partie des propriétés anti-inflammatoires des macrolides.

Ces propriétés anti-inflammatoires ont ensuite été mises en évidence sur des tests classiques d'activité anti-inflammatoires décrits dans la littérature comme le test de l'œdème plantaire aigu à la carraghénine chez le rat, le test de l'œdème plantaire aigu à la poly-L-arginine ou encore le test de l'œdème aigu induit par l'huile de croton. (Les protocoles utilisés figurent notamment dans l'article de C. Agen et Coll. Agents Actions 38, 1993, p. 85-90).

Les résultats obtenus sur ces tests confirment l'activité anti-inflammatoire du L-cladinose.

REVENDICATIONS

- 1) A titre de médicament, le cladinose sous toutes ses formes stéréoisomères possibles ainsi que leur mélange, libre ou greffé sur un support.
 - 5 2) A titre de médicament le L-cladinose.
 - 3) A titre de médicament anti-inflammatoire le cladinose et notamment le L-cladinose.
 - 4) Les compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un médicament selon l'une quelconque des
- 10 revendications 1 à 3.

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2735694

N° d'enregistrement
national

FA 515852

FR 9507337

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées de la demande examinée
X	EP-A-0 388 314 (OREAL) 19 Septembre 1990 * le document en entier * * surtout page 4, ligne 11 à 15 *	1-4
D,A	JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY, vol. 31, no. c, 1993 pages 51-64, LABRO, M.T. ET AL 'Modulation of human polymorphonuclear neutrophil function by macrolides: preliminary data concerning dirithromycin' * le document en entier *	1-4

DOMAINES TECHNIQUES
RECHERCHES (Int.CL.6)

A61K

Date d'achèvement de la recherche

14 Mars 1996

Examineur

Mair, J

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un
autre document de la même catégorie
A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication
ou arrière-plan technologique général
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure
à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date
de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

1
EPO FORM 150 03.82 (P04C13)